

氏名	横 谷 尚 起
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	農 学
学位授与番号	博甲第2755号
学位授与の日付	平成16年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科エネルギー転換科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Studies on the ethylene biosynthesis and signaling during development and ripening in tomato fruit (トマト果実の成熟および発育期間中のエチレンの生合成とシグナル伝達系に関する研究)
論文審査委員	教授 稲葉 昭次      助教授 久保 康隆      教授 梶田 正治

## 学位論文内容の要旨

トマトに代表されるクライマクテリック型果実の成熟はエチレンに強く依存しており、成熟初期に多量に生成されるエチレンによって果実の成熟(着色・軟化)が劇的に進行する。果実は未熟時にも低レベルのエチレン(システム・1)を生成しているが、それが成熟初期には自己触媒作用によって劇的に増加する(システム・2)。本研究ではトマトにおいてエチレンシグナルに重要とされる *EIN3/EIL* 遺伝子について解析することで、果実成熟時におけるエチレン生合成およびシグナル伝達系の機構を調査した。トマト成熟果実由来RNAから4種の *EIN3/EIL* ホモログ(*LeEIL1-4*)をクローニングし、RNA-interference (RNAi)法を用いてこれらの遺伝子の発現を抑制した形質転換トマトの作出を行った。4種全ての *EIL* 遺伝子の発現が抑制された形質転換系統では果実成熟(着色・軟化)が強く抑制され、そしてそれはエチレン感受性の欠如に起因していた。この結果から、トマトの果実成熟において *EIL* 遺伝子が重要な役割を果たしていることが示された。しかし興味深いことに、*EIL* 遺伝子を抑制した果実においても通常の成熟時期(開花後39日目以降)になると緩やかにではあるがエチレン生成量が増加することが観察された。そこで次にこのエチレン生成がエチレン非依存的に制御されているのではないかと考え、その特性ならびにエチレン生合成遺伝子の発現特性について調査した。形質転換体果実のエチレン生成量の緩慢な増加は、エチレンの強力な作用阻害剤である1-MCP処理の影響をほとんど受けなかった。また、野生型に1-MCP処理すると、形質転換果実と同様な緩慢なエチレン生成のみが見られた。これらの結果から、果実発育中のエチレン生成には自己触媒的制御だけではなくエチレン非依存的、つまり発育ステージ依存的に制御されている部分があることが示された。以上の結果から、形質転換体で観察された発育ステージによって制御されるエチレン生成の上昇が自己触媒的なシステム・2エチレン生成の引き金である可能性が考えられた。

## 論文審査結果の要旨

クライマクテリック型果実では、成熟初期に多量に生成されるエチレン（システム2エチレン）によって成熟が劇的に進行する。このエチレンは、成熟前から恒常的に生成されている微量エチレン（システム1エチレン）が閾値を超えることにより、自己触媒的に誘導されると考えられているが、直接的な証明はなされていない。本研究は、シロイヌナズナで解明されているエチレンのシグナル伝達系の最終段階に位置する EIN3/EIL タンパク質の抑制形質転換トマトを作出し、システム1からシステム2への切り換わりを調べたものである。

まず最初に、トマト果実から4種の *EIN3/EIL* ホモログ(*LeEIL1-4*)を得た。さらに、これらをプローブとしてライブラリースクリーニング法によって推定アミノ酸配列が既報の *EIN3/EIL* ホモログと高い相同性を示す4種の全鎖長 cDNA 断片を得た。次に、RNA-interference(RNAi)法を用いてこれらの遺伝子の発現を抑制した形質転換トマト (RiEILs) の作出を行った。その結果、葉のエチレン応答性(上偏成長)を示さない3系統では、4種全ての *LeEIL* mRNA が低いレベルに抑制されており、果実成熟も強く抑制された。また茎の徒長、花脱離の遅延など典型的なエチレン非感受性の表現型を示した。RiEILs 果実は自己触媒エチレン生成を示さず、正常には成熟しなかった。しかし 形質転換トマトでも野生型の通常の成熟期になると徐々にエチレン生成量が増加し始め、それに伴って着色と果実軟化が進行した。この成熟の進行とエチレン生成量の緩慢な増加はエチレンの作用阻害剤 1-MCP によっても阻害されなかった。一方、発育段階依存的なシグナルの欠損によって成熟不全となる *rin* および *nor* 変異体の果実は形質転換体で観察されたようなエチレン生成の増加を示さなかった。これらの結果は、果実の成熟時にみられる多量なシステム2エチレンは、成熟段階に達するとシステム1エチレンが閾値を超えるように発育的に組み込まれた機能により誘導されることを明確に示している。

以上のように、本研究は果実の成熟エチレンの生成機構に新たな知見を付け加えるとともに、流通・貯蔵技術の向上にも繋がる成果を含んでおり、博士（農学）の学位に値すると認定される。